

DAFTAR PUSTAKA

- Abbot, W.S. 1925. A Method of Computing The Effectiveness of An Insecticide. *Journal Economic Entomology* (18): 265-26
- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. Academic Press. New York
- Al-Zahrani, S.H.M. 2007. Studies on the antimicrobial activity of *Streptomyces* sp. isolat from Jazan. *JKAU Sci* 19:127-138.
- Andri. 2004. Kajian Potensi *Streptomyces* spp. PS1-4 sebagai Penghasil Senyawa Bioaktif Pengendali Patogen Tanaman Kedelai [Skripsi]. Bogor Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Badan Pusat Statistik. 2016. Produksi Tpmat Menurut Provinsi, 2010-2014. http://www.pertanian.go.id/ap_pages/mod/datahorti. Diunduh pada tanggal 27 Desember 2016
- Broadbent, P., Baker, K.F., Franks, N., dan Holland, J. 1977. Effect of *Bacillus* spp. on Increased Growth of Seedling in Steamed and in Nontreated Soil. *Phytopathology* 67 :1027-1034.
- Cerkauskas, R. 2004. Bacterial Wilt: *Ralstonia solanacearum* (*Pseudomonas solanacearum*). AVDRC – The World Vegetable Center. Taiwan
- Cavalcante, E.B., Mariono, R.L.R., Leite, J.P., dan Coelho, R.S.B. 1995. Influence of Mineral Nutrition on The Reaction of Tomato Cultivars Yoshimatsu and Santa Cruz to *Pseudomonas solanacearum*. *Bacterial Wilt Newsletter*. 12:3:8.
- Djarmiko, H.A., Arwiyanto, T., Hadisutrisno, B., dan Sunaminto, B.H. 2007. Potensi tiga genus bakteri dari tiga rizosfer tanaman sebagai agensia pengendali hayati penyakit lincat. *J Lit Pertan.* 9: 40-47.
- Duriat, A., Sulyo, Y., Sutarya, R., dan Asandhi, A.A. 1997. New Approach on Plant Biotechnology for Controlling Cucumber Mosaic Virus on Pepper. *Proc. Workshop on Agricultural Biotechnology*. CRIFC. Bogor. p. 165-173
- EPPO Quarantine Pest. [3 Mei 2011]. Data Sheet of Quarantine pest *Ralstonia solanacearum*. European Union.
- Felde, A.Z., Pocasangre, L.E., Monteros, C.A.C., Sikora, R.A, Rosales, F.E., Riveros, A.S. 2006. Effect of Combined Inoculations of Endophytic Fungi on Biocontrol of *Radhopholus similis*. *InfoMusa*. 15 (1-2): 12-18

- Giovannucci, E., Rimm, E.B., Liu, Y., Stampfer, M.J., Willet, W.C. 2002. A Prospective Study of Tomato Products, Lycopene, and Prostate Cancer Risk. *Journal National Cancer Institute* 95 (5): 391-398
- Haas, D dan Devago, G. 2005. Biological Control of Soil-Borne Pathogens by *fluorescens Pseudomonas*. *Nature Review. Microbiology*. 1-13
- Hanudin., Marwoto, B., Hersanti., dan Muharam, A. 2012. Kompatibilitas *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Trichoderma harzianum* untuk mengendalikan *Ralstonia solanacearum* pada Tanaman Kentang. *Jurnal Hortikultura* 22 (2): 173-180
- Hayward, A.C. 1976. Systematic and Relationship of *Pseudomonas solanacearum* .p.6-13. In: Sequaria,L. And A. Kelman. (eds). *Proc. First Int.Conf. of Bacterial Wil Caused By . Pseudomonas solanacearum*. Raleigh, North Carolina.
- Hayward, A.C. 1984. Systematic and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. In: Hayward. A.C. and G.L. Hartman. *Bacterial Wilt. The Disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. CAB International.
- Jumin, H.B. 2002. *Agronomi*. Raja Grafindo Persada. Jakarta
- Kawaguchi, A., Inoue, K., Ichinose, Y. 2008. Biological Control of Crown Gall of Grapevine, Rose, Tomato by Nonpathogenic *Agrobacterium vitis* Strain VAR03-1. *Jurnal Phytophology* (98): 11
- Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* North Caroline Agricultural Experiment Station. *Tech..Bul.*(99)194.
- Kurabachew., Hdan Wydra, K. 2013. Characterization of Plant Growth Promotions Rhizobacteria and Their Potential as Bioprotectant against Tomato Bacterial Wilt caused by *R. solanacearum*. *Journal Biological Control* 67: 75-83
- Lestari, Y. 2006. Identification of Indigenous *Streptomyces* spp. Producing Antimicrobial Compounds. *J Mikrobiol Indonesia* 11: 99-101.
- Liu, W.L., Zhang, C.B., Wans, J., dan Pan, X.C. 2013. Evaluation of The Importance of Bacteria in Vertical Flow Microcosms Using *Streptomycin sulfate* as The Bactericide. *African Journal of Microbiology Research* 7:1

- Lugtenberg, B dan Kamilova, F. 2009. Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Annu Rev Microbiol.* 63: 541-56.
- Machmud, M. 1986. Bacterial wilt in Indonesia. p. 30-34. *In* G.J. Persley (Ed.). *Bacterial Wilt Disease in Asia and the South Pacific*. ACIAR Proceedings No. 13, Canberra, Australia.
- Mahyuni, E.L. 2015. Faktor Risiko dalam Penggunaan Pestisida terhadap Keluhan Kesehatan pada Petani di Kecamatan Berastagi Kabupaten Karo 2014. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 9 (1): 79-89
- Ma, X., Wang, X., Cheng, J., Nie, X., Yu, X., Zhao, Y., dan Wang, W. 2015. Microencapsulation of *Bacillus subtilis* B99-2 and Its Biocontrol Efficiency against *Rhizoctonia solani* in Tomato. *Journal Biological Control* 90: 34-41
- Marques, E., Uesugi, C.H., Ferreira, MASV., dan Rezende, D.V. 2012. Characterization of isolates of *Ralstonia solanacearum* biovar 2, Pathogenic to Eucalyptus “urograndis” Hybrids. *Journal Tropical Plant Pathology* 37: 6
- Mc Carter, S.M. 2006. Bacteria Wilt. Di dalam: Jones JB, Jones JP, Stall RE, Zitter TA, editors. *Compendium of Tomato Disease*. Minnesota [USA]: The American Phytopathological Society. Hlm 28-29
- Mehrotra, R.S. 1980. *Plant Pathology*. Tata Mc. Graw Hill Pub. Co. Ltd. New Delhi. 771pp.
- Mukaromah, F. 2005. Hubungan Antara Populasi Afid dengan Kejadian Penyakit CMV pada Tembakau H382 yang Diintroduksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, Cacing Merah (*Lumbricus rubellus*) dan Virus CMV-48. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Jember.
- Munif, A., Pradana, A.P., Soekarno, B.P.W., dan Herliyana, E.N. 2014. Isolasi dan Uji Potensi Konsorsium Bakteri Endofit Asal Tanaman Kehutanan sebagai Agen Biokontrol dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman Tomat. *Prosiding Seminar Nasional Perlindungan Tanaman II*. Bogor. 13 November 2014
- Mustika, I dan Nuryani, Y. 2006. Strategi pengendalian nematoda parasit pada tanaman nilam. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 25(1): 7–15.

- Muthanas I. 2004. Potensi *Streptomyces* sp. Sebagai Agen Pengendali *Raltsonia solanacearum* pada Tanaman Cabai. [Thesis]. Departemen Biologi Institut Pertanian Bogor
- Nawangsih, A.A. 2006. Seleksi Karakterisasi Bakteri Biokontrol untuk Mengendalikan Penyakit layu bakteri (*R. solanacearum*) pada Tomat. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Pratiwi, R. 2005. Perbedaan Daya Hambat terhadap Streptococcus mutans dari Beberapa Pasta Gigi yang Mengandung Herbal. Journal Dentist. 38 (2): 64-67
- Propagdee, B., Kuekulvong, C., dan Mongkolsuk, S. 2008. Antifungal Potential of Extracellular Metabolites Produced by Streptomyces hygroscopicus Against Phytopathogenic Fungi. International Journal of Biological Science. 4: 330- 337
- Purwanto, S dan Tjahjono, B. 2011. Pengamatan Penyakit Layu Bakteri pada Tomat di Greenhouse dari Pengujian Agens Antagonis. *Prosiding Kongres Nasional XVI dan Seminar Ilmiah*; 2001 Agu 22-24, Bogor. Bogor
- Putro, N.S., Aini, L.Q., dan Abadi, A.L. 2014. Pengujian Konsorsium Mikroba Antagonis untuk Mengendalikan Penyakit Antraknosa pada Cabai Merah Besar (*Capsicum annuum* L). Jurnal HPT 2 (4): 44-53
- Romeiro, R.S., Moura, A.B., Matsouka, K., dan Fernandes, M.C. 1997. Actinomycetes selected for biological control of tomato wilt (*Raltsonia solanacearum*) and growth promotion after seed microbialization *Biol Cont* 23: 245-253.
- Sastrahidayat, I.R. 1990. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Usaha Nasional, Surabaya.
- Semangun. H. 2004. Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Semangun, H., 2007. Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura Di Indonesia, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 845 pp.
- Silaban, I.C., Aini, L.Q., dan Syib'li, M.A. 2015. Pengujian Konsorsium Mikroba Antagonis untuk Mengendalikan Jamur *Sclerotium rolfsii* Penyebab Penyakit Rebah Semai pada Kedelai (*Glycine max* L). Jurnal HPT 3 (2): 100-107

- Soesanto L. 2004. Kemampuan *Pseudomonas fluorescens* P60 sebagai agensia pengendali hayati penyakit busuk batang kacang tanah in vivo. *Eugenia* 10(1): 8–17.
- Soesanto, L. 2008. Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman, Suplemen ke Gulma dan Nematoda. Rajawali Pers, Jakarta. 574 hal.
- Van Loon, L.C. 2000. Systemic Induced Resistance. Pp: 521-574 In A.J. Slusarenko, R.S.s, Fraser, L.C. van Loon (eds.), *Mechanisms of Resistance to Plant Diseases*. Kluwer Academic Publisher. London
- Supriadi dan Febriyanti, D. 1995. Antagonisme aktinomisetes terhadap *Pseudomonas solanacearum* dan *P. syzygii*. *Pemberitaan Penelitian Tanaman Industri* 20(3-4): 92-97.
- Ulya, J. 2009. Kemampuan Penghambatan *Streptomyces spp.* terhadap Mikroba Patogen Tular Tanah Pada Beberapa Kondisi Pertumbuhan [online]. http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/4626/Tinjauan%20Pustaka_2009jul-3.pdf?sequence=9. Diakses 1 Agustus 2017
- Van Loon, L.C. 2000. Systemic Induced Resistance. Pp: 521-574 In A.J. Slusarenko, R.S.s, Fraser, L.C. van Loon (eds.), *Mechanisms of Resistance to Plant Diseases*. Kluwer Academic Publisher. London.
- Wahyuni, W.S. 2001. Peranan Asam Salisilat, H₂O₂, dan CaCl₂ sebagai Penginduksi Ketahanan Tanaman Terhadap Infeksi *Cucumber mosaic virus*. *Prosd. Hasil Penelitian Hibah DUE Project Universitas Jember* 1: 35-41.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Tomat

Penyakit layu bakteri pada tanaman tomat yang disebabkan oleh patogen *R. solanacearum* merupakan salah satu penyakit tanaman paling berbahaya yang penyebarannya telah luas di daerah tropika dan sub tropika (Hayward, 1984). Di Indonesia penyakit layu bakteri masih menjadi kendala utama pada bagian produksi pada berbagai tanaman pertanian. Khususnya pada tanaman kentang, tomat, cabai, tembakau, kacang tanah, jahe, dan pisang (Machmud, 1986). Bakteri *R. solanacearum* merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit layu yang penting pada wilayah tropis, sub tropis, dan daerah yang beriklim hangat. Bakteri ini termasuk ke dalam patogen tular tanah dan air yang memiliki sifat nonfluoresens berasal dari famili Ralstoniaceae. Pada sejumlah tanaman yang memiliki ekonomi tinggi, bakteri *R. solanacearum* dapat memberikan dampak negatif hingga mematikan tanaman tersebut.

Di Indonesia berdasarkan dari penelitian yang telah dilakukan, penyakit layu bakteri telah lama dikenal sebagai penyakit yang paling merugikan tanaman cabai dan tomat telah dilaporkan pada tahun 1921 dan 1922 di Madiun dan Kediri (Van Hall 1922 dalam Semangun 2004).

2.2. Gejala Penyakit *R. solanacearum*

Gejala serangan *R. solanacearum* secara umum ialah tanaman seperti kekurangan air, daun muda pada pucuk tanaman menjadi layu, dan daun-daun tua atau daun-daun di bagian bawah menguning (Cavalcante *et.al.*, 1995). *R. solanacearum* masuk dan menginfeksi pada luka-luka di bagian akar, termasuk luka yang disebabkan nematoda atau organisme lain. Selanjutnya bakteri masuk ke jaringan tanaman bersama-sama unsur hara dan air secara difusi dan menetap di pembuluh xilem dalam ruang antar sel (Duriat, 1997). Tanaman tomat yang terinfeksi patogen ini menyebabkan daun menjadi terkulai ke bawah (layu) dan sistem pembuluh menjadi coklat, batang tanaman akan terus tumbuh tinggi dan kurus (Gambar 1), terbentuk lebih banyak akar adventif di permukaan batang.

Dibutuhkan pengendalian dengan tidak mengaplikasikan pemakaian pestisida secara berlebihan, yaitu dengan cara penggunaan agens hayati untuk menekan penyebaran penyakit layu bakteri pada tanaman tomat.



Gambar 1. Gejala Penyakit Layu Bakteri Pada Tanaman Tomat

Sumber: Photo Courtesy of Longston, David B. University of Georgia.
www.bugwood.org.

Serangan *R. solanacearum* pada tanaman tomat menunjukkan gejala penyakit layu bakteri yang muncul berawal dari daun bagian bawah yang menunjukkan gejala layu, daun menguning sampai coklat kehitam-hitaman dan gejala lebih lanjut tanaman akan mati. Jaringan vaskuler batang menunjukkan perubahan warna coklat dan jika batang dipotong melintang akan terlihat bekas pembuluh berwarna kecoklatan (Agrios, 2005) (Gambar 2).



Gambar 2. Irisan batang tomat yang bergejala layu bakteri (Agrios, 2005)

2.3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Perkembangan *R. solanacearum*

Perkembangan penyakit *R. solanacearum* dapat dipengaruhi beberapa faktor, baik faktor internal maupun faktor. Penyebaran bakteri *R. solanacearum* dapat melalui air tanah, bibit yang terinfeksi, umbi-umbian, transplantasi, dan kontaminasi melalui pisau atau alat potong lainnya. Tak hanya itu, terdapat beberapa kasus dalam penyebaran bakteri ini perlakuan serangga sebagai vektor penyebaran penyakit. Proses bakteri hingga bisa sampai pada ke jaringan tanaman ialah bakteri masuk melalui luka dan celah-celah akar. Sebelum menyebar ke jaringan tanaman bakteri masuk pada pembuluh xylem, lalu bakteri masuk ke dalam ruang antar sel parenkim di korteks dan empulur. Massa bakteri akan muncul setelah dinding sel larut dan adanya rongga yang terbuka (Agrios, 2005).

Faktor eksternal seperti lingkungan juga sangat mempengaruhi perkembangan penyakit *R. solanacearum*. Perkembangan patogen *R. solanacearum* dipengaruhi oleh suhu, kelembaban udara dan air, serta faktor kebugaran tanaman. Munculnya gejala layu bakteri disebabkan juga oleh kelembaban tanah yang tinggi. Patogen akan dapat berlangsung hidup dan berkembang serta menginfeksi penyebarannya melalui tanah pada kelembaban yang tinggi. Pada daerah dataran rendah penyakit layu bakteri menjadi permasalahan yang besar dikarenakan mampu mempertahankan kelembaban tanah dalam waktu yang lama (Cercauskas, 2004).

2.4. Ekologi *R. solanacearum*

Pada kondisi tanah berpasir yang memiliki kelembaban tinggi dan suhu diatas 24⁰ C *R. solanacearum* akan dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. Perkembangan patogen sangat dipengaruhi oleh suhu, suhu optimum untuk pertumbuhan *R. solanacearum* sangat bergantung pada strainnya dan memiliki ragam yang bervariasi antara 27-37⁰ C dengan suhu maksimum sekitar 39⁰ C dan suhu minimum 10-15⁰ C (Hayward, 1976). Tidak disemua suhu bakteri dapat tumbuh, pada suhu tertentu bakteri kurang bisa mengembangkan potensinya

untuk hidup dan berkembang. Pada suhu 40⁰ C bakteri tidak dapat tumbuh (EPPO, 2004), populasi *R. solanacearum* menurun secara signifikan ketika terjadi peningkatan suhu tanah dan penurunan kelembaban tanah. Akan tetapi, pada kelembaban yang tinggi dan temperatur yang rendah, bakteri dapat bertahan dalam waktu relatif lama di dalam tanah. Pada keadaan tanah yang basah bakteri layu akan dirugikan dikarenakan pada saat keadaan basah tanaman akan mengabsorpsi air lebih tinggi dan berakibat pada tanaman mengalami sukulen dan terjadi peningkatan aktivitas bakteri (Sastrahidayat, 1990).

2.5. Pengendalian Hayati Penyakit Layu Bakteri Menggunakan Mikroba Antagonis

Pengendalian penyakit tanaman saat ini lebih ditekankan pada pengendalian agens hayati yakni pemanfaatan penggunaan organisme antagonis untuk menekan jumlah, aktifitas, dan penyebaran patogen. Pengendalian hayati merupakan penurunan kepadatan inokulum atau aktifitas patogen atau parasit pada keadaan aktif atau dorman, oleh satu atau lebih organisme secara alami atau melalui manipulasi lingkungan, inang, antagonis, atau introduksi massal dari satu atau lebih antagonis (Baker dan Cook, 1983). Perlakuan pengendalian hayati dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain 1) Dengan melakukan praktek budidaya atau pengelolaan hayati sehingga tercipta terciptanya lingkungan yang sesuai bagi antagonis atau bagi resistensi tanaman inang atau meliputi keduanya, 2) Dengan pemuliaan tanaman yang bertujuan bagi resistensi tanaman terhadap patogen akan semakin meningkat atau aktifitas antagonis oleh tanaman inang telah sesuai, 3) Dengan introduksi massal antagonis, ras non patogenik, dan organisme atau agens yang berguna lainnya (Lewis dan Papavizas, 1991 *dalam* Mujoko *et al.*, 2005).

Agens hayati adalah mikroorganisme dari kelompok bakteri, cendawan, Actinomycetes, bahkan virus yang berfungsi sebagai penghambat perkembangan Organisme Pengganggu Tanaman (OPT). Menurut Cook (1991 *dalam* Hanudin dan Marwoto, 2012) mengemukakan bahwa, pengendalian hayati adalah tindakan pengendalian Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) yang berfungsi

untuk menekan kepadatan populasi atau aktifitas patogen sehingga kerusakan pada tanaman inang tidak berkembang pesat. Secara umum agens hayati memiliki mekanisme daya hambat terhadap patogen melalui antibiotik yang dihasilkan. Pengendalian *R. solanacearum* sangat baik menggunakan mikroba antagonis dikarenakan patogen dapat langsung terbunuh oleh toksin yang dihasilkan serta menghasilkan senyawa penginduksi ketahanan dan pertumbuhan tanaman. Bakteri *Bacillus* sp dan *P. fluorescens* merupakan contoh bakteri antagonis yang memiliki aktivitas antibakteri yang cukup pada skala laboratorium (Hartati et al. 1991; Supriadi dan Febriyanti 1995).

Edward *et al* (1992 dalam Rizzah, 2005) menyatakan bahwa agens hayati yang berasal dari bakteri yang berguna untuk mengendalikan jamur patogen lebih banyak dari genus *Pseudomonas*, *Streptomyces*, dan *Bacillus*. *B. subtilis* dapat mengendalikan penyakit tular tanah pada tomat dan meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat. Serangan *R. solanacearum* telah terbukti dapat ditekan oleh *B. subtilis* (Hanudin *et al.*, 2012). Salah satu bakteri yang masuk dalam kelompok *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) adalah *P. fluorescens*. Manfaat *bioprotectant* dalam *P. fluorescens* adalah mencegah perkembangan patogen dalam tanah. Penekanan serangan penyakit layu bakteri pada tanaman tomat dapat dilakukan dengan penyiraman *P. fluorescens* (Hanudin *et al.*, 2011). Konsorsium mikroba antagonis adalah kombinasi antara organisme antagonis dari *B. subtilis*, *P. fluorescens*, dan *Streptomyces* sp. Penelitian telah membuktikan bahwa konsorsium mikroba antagonis dapat menekan serangan serangan *C. capsici* pada tanaman cabai (Putro *et al.*, 2014) dan *S. rolfsii* pada tanaman kedelai (Silaban *et al.*, 2015).

2.6. *Streptomyces* sp

Streptomyces sp merupakan bakteri gram positif berfilamen, siklus hidup *Streptomyces* sp kompleks serta memiliki kemampuan menghasilkan dan mensekresi metabolit sekunder, senyawa bioaktif seperti antibiotik, enzim, dan inhibitor enzim. Bahan organik dapat diuraikan oleh *Streptomyces* sp

dikarenakan *Streptomyces* sp merupakan decomposer yang pwnting dan hidup di dalam tanah. Pada keadaan lingkungan yang stres seperti kekeringan dan kekurangan makanan, *Streptomyces* sp akan tetap bertahan dan akan membentuk spora (Cao *et al.*, 2004). Telah dibuktikan bahwa beberapa isolat indigenus *Streptomyces* sp. memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antimikrob (Lestari, 2006), antara lain menghambat serangan pertumbuhan bakteri patogen *R. solanacearum* pada tanaman cabai (Muthanas, 2004) dan *X. axonopodis* pada tanaman kedelai (Andri, 2004).

Patogen tanaman dapat dihambat oleh mekanisme antibiosis dan ketahanan sistemik yang meningkat didapatkan dari kemampuan *Streptomyces* (Romeiro *et al.*, 1997). Djatmiko *et al.*, (2007) juga mengemukakan bahwa serangan *R. solanacearum* dapat ditekan oleh *Streptomyces* sp. dengan cara antibiosis dan mekanisme penghambatan secara bakteriostatik. *Streptomyces* sp. memiliki kemampuan mentolerir tanah kering lebih baik jika dibandingkan dengan *Pseudomonas* dan *Bacillus* sp. Penghasil antibiotik yang potensial dimiliki oleh *Streptomyces* sp. untuk itu bakteri tersebut banyak digunakan dalam pengendalian biologi dan bakterisasi, atau mengkombinasikan dengan mikroorganisme prokariotik lainnya (Habazar, 2006).

2.7. *Pseudomonas fluorescens*

Pseudomonas sp adalah organisme yang termasuk dalam famili Pseudomonaceae. Salah satu sub grup bakteri ini adalah Fluorescens. Sifat dari bakteri ini adalah termasuk dalam bakteri gram negatif, aerob, dan memiliki flagela polar. Adapun ciri morfologi dari bakteri *P. fluorescens* yakni bentuknya batang lurus atau melengkung tetapi tidak berbentuk heliks, memiliki satu sel tunggal, dan berukuran 0,5-1 x 1,5-4 µm. Bakteri *P. fluorescens* membentuk pigmen berpendar yang dikenal dengan nama fluorescein atau pyoverdin. Manfaat dari pyooverdin adalah sebagai senyawa pengikat besi dan pengangkut besi yang berperan dalam melawan patogen melalui aktivitas antagonis (Soesanto, 2004).

Salah satu kelompok bakteri dalam *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) adalah bakteri *P. fluorescens*. PGPR memiliki manfaat meningkatkan kesuburan tanah, memacu pertumbuhan tanaman, dan menekan perkembangan penyakit. Manfaat bioprotectant dalam *P. fluorescens* memberikan pengaruh pencegahan patogen di dalam tanah. Serangan penyakit layu bakteri pada tomat dapat ditekan oleh penyiraman *P. fluorescens*. Selain menekan perkembangan populasi dan aktivitas patogen, ketahanan tanaman terhadap penyakit dapat diinduksi oleh *P. fluorescens*. Untuk rizosfer pada berbagai jenis tanaman *P. fluorescens* lebih mendominasi, yang menyebabkan untuk memperoleh bakteri tersebut tidaklah susah (Hanudin *dkk*, 2011).

2.8. *Bacillus subtilis*

Bacillus sp juga mampu menghasilkan senyawa fitohormon seperti auksin, sitokinin, etilen, giberelin dan asam absisat yang mampu merangsang pertumbuhan tanaman, dan akhirnya berdampak pula pada peningkatan hasil (Suryaningsih, 2008). Kemampuan *Bacillus* sp. juga diketahui mampu sebagai PGPR yang memacu pertumbuhan tanaman, meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit (ISR: induce systemic resistant) dan akhirnya mampu meningkatkan hasil tanaman (van Loon, 2000; Broadbent et al., 1977). Menurut Mehrotra (1980), mekanisme penekanan oleh genus *Bacillus* sp. adalah antibiosis, dengan menghasilkan antibiotika bulbiformin yang beracun terhadap berbagai patogen tanaman. Lebih lanjut Burrow (1965 dalam Susanti, 1995) mengatakan sejumlah antibiotika yang telah diisolasi dari *B. subtilis* antara lain basitrasin, subtilin, dan basilin. Vasudeva (1962 dalam Mehrotra, 1980) mengatakan bahwa *B. subtilis* mempunyai antibiotika yang disebut bulbiformin yang mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum*. Suatu tipe *B. subtilis* yaitu *B. nato* menghasilkan antibiotika basitrasin yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa organisme.

3. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan dan Rumah Kaca Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, pada bulan Februari sampai dengan Agustus 2017.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain cawan petri, jarum ose, pinset, glass L, lampu bunsen, autoclave, microwave, botol media, gelas ukur, tabung reaksi, micro pipet, micro tip, micro tube, timbangan, penggaris, jangka sorong, meteran, pisau steril, seed tray, polybag, dan alat semprot. Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini yaitu media Nutrient Agar (NA), media Triphenyl Tetrazolium Chloride (TTC), media Nutrient Broth (NB), Alkohol 70%, aquadest steril, formalin 4%, spiritus, kertas saring, tissue, kapas, benih tomat varietas Permata, tanah, dan kompos.

Isolat *R. solanacearum*, isolat tunggal *Streptomyces* sp, isolat tunggal *B. subtilis*, dan isolat tunggal *P. fluorescens* diperoleh dari koleksi Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Konsorsium mikroba antagonis merupakan komposisi dari beberapa mikroba antagonis yaitu isolat *B. subtilis* dan *P. fluorescens* yang dikombinasikan dalam suatu formulasi oleh Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Brawijaya. Bakterisida yang digunakan berbahan aktif streptomisin sulfat 20%.

3.3. Pelaksanaan Penelitian

3.3.1. Perbanyakan *R. solanacearum*, *Streptomyces* sp, *B. subtilis*, *P. fluorescens*

Perbanyakan isolat *R. solanacearum*, *Streptomyces* sp, *B. subtilis*, *P. fluorescens* dilakukan dengan metode gores atau *streak plate*. Langkahnya yaitu mengambil satu jarum ose isolat masing-masing bakteri kemudian ditambahkan dengan metode gores pada media NA yang telah dipadatkan dalam cawan petri.

3.3.2. Uji Patogenisitas *R. solanacearum*

Uji patogenisitas adalah pengujian yang dilakukan untuk membuktikan apakah suatu isolat bakteri termasuk dalam patogen tanaman dan mampu menimbulkan penyakit pada tanaman

inangnya. Uji patogenisitas dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri patogen pada tanaman inang bakteri tersebut. Bagian tanaman yang diinokulasi harus disesuaikan dengan bagian yang diserang oleh bakteri patogen tersebut.

Uji patogenisitas pada penelitian ini dilakukan dengan tahap peremajaan bakteri *R. solanacearum* pada media NA selama 1x24 jam lalu diambil koloni bakteri sebanyak dua jarum ose dan disuspensikan dalam 250 ml NB kemudian digojog dengan *shaker* selama 2x24 jam. Kemudian suspensi bakteri sebanyak 50 ml disiramkan ke bagian akar tanaman tomat berusia 4 minggu setelah tanam yang sebelumnya dilukai terlebih dahulu dengan pisau steril.

Selanjutnya dilakukan pengamatan selama 7 hari hingga muncul gejala penyakit layu bakteri. Setelah muncul gejala penyakit layu bakteri, bagian batang yang terinfeksi *R. solanacearum* diisolasi kembali untuk memastikan bahwa tanaman tomat tersebut benar terserang bakteri *R. solanacearum*. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan tentang uji patogenisitas terhadap patogen *R. solanacearum* (Marques *et al.*, 2012).

3.3.3. Uji Antagonisme Mikroba Antagonis terhadap *R. solanacearum* secara *In Vitro*

Uji antagonis terhadap *R. solanacearum* di laboratorium menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Pengujian sifat antagonisme terhadap *R. solanacearum* dilakukan dengan menggunakan *Streptomyces* sp dengan pembanding perlakuan menggunakan kombinasi 2 isolat, isolat tunggal *B. subtilis*, *P. fluorescens*, dan bakterisida. Perlakuan dengan kombinasi 2 isolat menggunakan konsentrasi perlakuan 10 ml/liter. Metode uji antagonism yang dilakukan yaitu dengan metode spray atau pengkabutan (Kawaguchi *et al.*, 2008).

Tabel 1. Perlakuan Uji Antagonisme Mikroba Antagonis terhadap *R. solanacearum* secara *In vitro*

Perlakuan	Keterangan
<i>Streptomyces</i> sp	Isolat tunggal <i>Streptomyces</i> sp dengan kerapatan 10^9 cfu/ml
<i>B. subtilis</i>	Isolat tunggal <i>B. subtilis</i> dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml
<i>P. fluorescens</i>	Isolat tunggal <i>P. fluorescens</i> dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml
Kombinasi 2 isolat	Gabungan isolat tunggal <i>B. subtilis</i> dan <i>P. fluorescens</i>
Kombinasi 3 isolat	Gabungan isolat <i>Streptomyces</i> sp, <i>B. subtilis</i> , dan <i>P. fluorescens</i>
Bakterisida	Pemberian bakterisida kimia dengan bahan aktif streptomisin sulfat 20%

Isolat tunggal *Streptomyces* sp, *B. subtilis*, dan *P. fluorescens* yang telah diinkubasi selama 2x24 jam diambil dengan jarum ose lalu dimasukkan ke dalam micro tube yang berisi 1 ml aquadest steril lalu dikocok sampai homogen. Selanjutnya kertas saring steril dengan diameter 0,5 mm dimasukkan ke dalam suspensi tersebut selama ± 1 menit lalu ditiriskan di atas *tissue* steril selama ± 2 jam. Setelah itu, kertas saring yang sudah kering tersebut ditanam di media NA yang sudah dipadatkan pada cawan Petri lalu diinkubasikan selama 1x24 jam.

Pada perlakuan bakterisida, konsentrasi yang digunakan sesuai dengan aturan pakai pada kemasan yaitu 1,5 gram/liter. Setelah mikroba antagonis diinkubasi, diberikan kloroform pada tutup cawan Petri kemudian cawan Petri tersebut didiamkan dalam keadaan terbalik selama 1 jam. Kemudian seluruh isolate antagonis tersebut dikabutkan (spray) dengan suspensi bakteri patogen *R. solanacearum* (Gambar 3).

Perlakuan tersebut kemudian diinkubasi selama 3x24 jam setelah inokulasi patogen *R. solanacearum* untuk mengetahui daya hambatnya yang ditunjukkan dengan munculnya zona bening. Begitu pula dilakukan pada perlakuan dengan bakterisida.

Perhitungan zona bening dihitung menggunakan rumus menurut Pratiwi (2005):

$$\text{Ukuran Zona Bening} = \frac{Dv + Dh}{2}$$

Keterangan:

Dv adalah diameter zona bening secara vertikal (mm)

Dh adalah diameter zona bening secara horizontal (mm)

3.3.4. Uji Penekanan Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Tomat di Rumah Kaca

Pengujian penekanan penyakit layu bakteri pada tanaman tomat yang disebabkan oleh *R. solanacearum* dilakukan di rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Pengujian tersebut menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 6 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali.

Persiapan media tanam.

Media tanam yang digunakan adalah tanah serta kompos dengan perbandingan 1:1. Tanah dan kompos telah dicampur secara merata terlebih dahulu disterilkan dengan cara menyiramkan formalin 4% ke tanah dan kompos secara merata untuk mencegah adanya patogen yang tidak diinginkan menyerang tanaman tomat yang akan ditanam. Kemudian media tanam yang telah

diberi formalin tersebut diinkubasi selama satu minggu. Setelah masa inkubasi selesai lalu media tanam dikeringanginkan selama satu minggu.

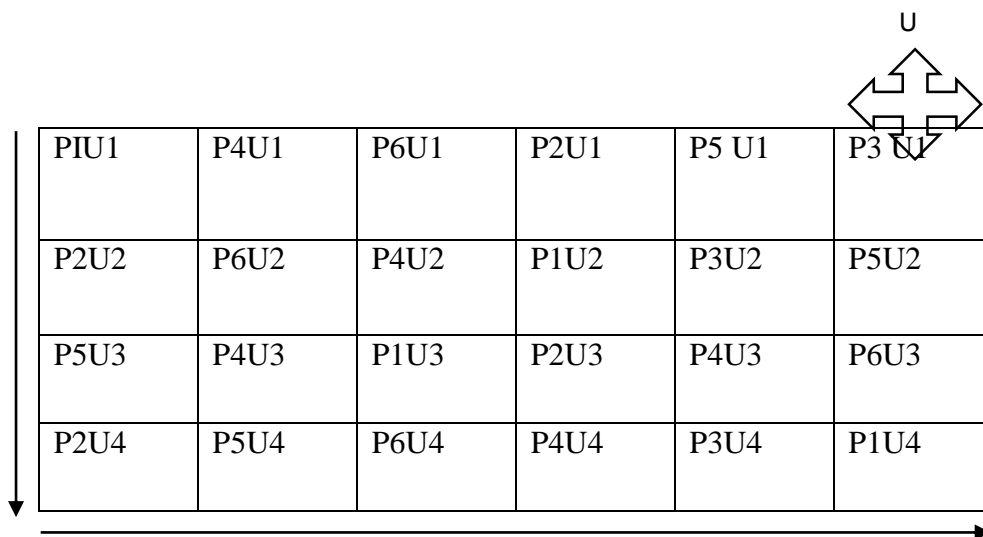
Pembibitan.

Benih tomat yang dipakai pada percobaan penekanan penyakit layu bakteri di rumah kaca adalah benih dengan varietas Permata. Benih yang akan ditanam adalah benih yang menunjukkan kriteria sehat, yaitu benih yang memiliki bentuk yang utuh dan benih yang tidak membawa patogen. Sebelum penanaman di polybag, benih tomat terlebih dahulu dibibitkan di seed tray.

Pemberian mikroba antagonis yang baik terpilih dan inokulasi bakteri patogen.

Setelah bibit tomat berumur 14 hari setelah semai maka dapat dipindah tanam ke *polybag* berukuran 30x30 cm yang sudah berisi campuran tanah dan kompos. Aplikasi mikroba antagonis yang terpilih terbaik yaitu kontrol, isolat tunggal Antagonis A dan *R. solanacearum*, isolat tunggal Antagonis B dan *R. solanacearum*, isolat tunggal Antagonis C dan *R. solanacearum*, dan isolat tunggal Antagonis D dan *R. solanacearum* masing-masing dengan kerapatan 10^9 dilakukan dengan cara menyiramkan suspensi tersebut masing-masing 10 ml ke bagian perakaran tanaman tomat. Begitu pula untuk aplikasi bakterisida dengan konsentrasi 1,5 g/liter

Satu minggu setelah pindah tanam dan aplikasi awal mikroba antagonis, tanaman tomat diinokulasi bakteri patogen dengan cara suspensi *R. solanacearum* sebanyak 50 ml disiramkan ke tanaman tomat secara langsung pada bagian perakaran yang telah dilukai dengan pisau steril.



Gambar 3. .Denah rancangan percobaan di rumah kaca

Keterangan: 1. Setiap satu petak terdiri dari 6 *polybag* tanaman tomat

2. Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak dengan 4 perlakuan 4 ulangan

Kelompok

3. P adalah perlakuan; U adalah ulangan

Uji penekanan penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum* terdiri dari 6 perlakuan (Tabel 2):

Tabel 2. Perlakuan uji penekanan penyakit layu bakteri di rumah kaca

Perlakuan	Keterangan
Kontrol	Kontrol dengan aquadest (tanpa aplikasi mikroba antagonis)
Antagonis A+ <i>R. solanacearum</i>	Pemberian isolat tunggal Antagonis A yang terbaik dipilih dengan <i>R. solanacearum</i>
Antagonis B+ <i>R. solanacearum</i>	Pemberian isolat tunggal Antagonis B yang terbaik dipilih dengan <i>R. solanacearum</i>
Antagonis C+ <i>R. solanacearum</i>	Pemberian isolat tunggal Antagonis C yang terbaik dipilih dengan <i>R. solanacearum</i>
Antagonis D+ <i>R. solanacearum</i>	Pemberian isolat tunggal Antagonis D yang terbaik dipilih dengan <i>R. solanacearum</i>
Bakterisida	Pemberian bakterisida kimia dengan bahan aktif streptomisin sulfat 20%

Pengamatan yang dilakukan mencakup tingkat kejadian penyakit dan pengaruh aplikasi mikroba antagonis terhadap pertumbuhan tanaman. Pertumbuhan tanaman yang diamati adalah tinggi tanaman dan jumlah daun tanaman tomat. Tinggi tanaman dihitung dari batang yang berada di atas permukaan tanah hingga bagian ujung tanaman. Daun yang dihitung yaitu daun yang sudah terbuka sempurna.

Pengamatan terhadap pertumbuhan tanaman dilakukan setiap sekali dalam seminggu. Kejadian penyakit layu bakteri diamati setiap sekali dalam seminggu dan sebanyak lima kali sejak gejala serangan awal munculnya patogen. Kejadian penyakit diamati setiap satu minggu sekali dan berlanjut sampai lima minggu pengamatan. Persentase kejadian penyakit layu bakteri pada tanaman tomat dihitung dengan menggunakan rumus menurut Abbott (1925 dalam Asniah dan Khaeruni 2006):

$$K = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

K : Tingkat kejadian penyakit (%)

n : Jumlah tanaman layu yang diamati

N : Jumlah tanaman yang diamati

3.4. Analisis Data

Data yang diperoleh dalam pengujian antagonis antara mikroba Antagonis A, Antagonis B, Antagonis C, dan Antagonis D yang terpilih terbaik dianalisis menggunakan analisis ragam (Uji F). Apabila dalam hasil pengujian terdapat pengaruh yang nyata antar perlakuan maka dilanjutkan dengan Uji Duncan pada taraf 5%.